UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1935-1936 — N° 262

RECHERCHES
SUR LA
RÉPARTITION DU GLUTATHION
DANS LES
ORGANES DES ANIMAUX INFÉRIEURS

Travail du Laboratoire de Chimie biologique et médicale

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention "PHARMACIE"

présentée et soutenue publiquement le Lundi 13 Janvier 1936

PAR

Jean-André-Emmanuel MONIER

Né à LESPARRE (Gironde) le 31 décembre 1908

Examinateurs de la Thèse :

MM. DELAUNAY, professeur ..... *Président.*
CHELLE, professeur .....
AUBERTIN, agrégé ..... } *Juges.*
VITTE, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1936

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547304_0019

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1935-1936 — N° 262

RECHERCHES

SUR LA

RÉPARTITION DU GLUTATHION

DANS LES

ORGANES DES ANIMAUX INFÉRIEURS

Travail du Laboratoire de Chimie biologique et médicale

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention "PHARMACIE"

présentée et soutenue publiquement le Lundi 13 Janvier 1936

PAR

Jean-André-Emmanuel MONIER

Né à LESPARRE (Gironde) le 31 décembre 1908

Examinateurs de la Thèse :

MM. DELAUNAY, professeur ..... *Président.*

CHELLE, professeur .....

AUBERTIN, agrégé ..... } *Juges.*

VITTE, agrégé .....

BORDEAUX

IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS

6, Place Saint-Christoly

—

1936

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. MAURIAC.

ASSESSEUR : M. LABAT.

DOYEN HONORAIRE : M. C. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. POUSSON, MOURE, RIVIÈRE, BARTHE, DENIGÈS, BEILLE, CASSAËT, CHAVANNAZ, PACHON

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	MANDOUL.
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique chirurgicale	BÉGOUIN.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES.
Clinique chirurgicale et gynécologique	GUYOT.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie	ROCHER.
Pathologie et thérapeutique générales	CARLES.	Clinique méd. des maladies des enfants	CRUCHET.
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS.	Chimie biologique et médicale	DELAUNAY.
Anatomie pathol. et microscopie clinique	SABRAZÈS.	Physique médicale et pharmaceutique	C. SIGALAS.
Anatomie	VILLEMIN.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Chimie	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX.
Pharmacie	DUPOUY.	Clinique dentaire	DUBECQ.

MM LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). PAPIN (Chirurgie générale). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	N.	Chirurgie générale	CHARRIER.
id.	DUFOUR.	id.	LOUBAT.
Physiologie	FABRE.	Obstétrique	RIVIÈRE.
Médecine générale	DAMADE.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX.
id.	PIÉCHAUD.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	DELMAS-MARSALET.	Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
id.	DE GRAILLY.	Physique médicale	WANGERMEZ.
id.	FONTAN.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	VITTE.

COURS COMPLÉMENTAIRES

	MM.		MM.
Physiologie	FABRE.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Médecine opératoire	PAPIN.	Physique médicale et pharmaceut que	WANGERMEZ.
Accouchements	RIVIÈRE.	Botanique	GIRARD.
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Médecine légale	DERVILLÉE.
Puériculture	FAUGÈRE.	Bactériologie	MOUREAU.
Pharmacie chimique	VITTE.		

Ophtalmologie ..... MM. CABANNES (en congé).

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. N.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A LA MÉMOIRE DES MEMBRES DE MA FAMILLE

Dont mon cœur garde et aime le souvenir.

A MON PERE — A MA MERE

Bien faible témoignage de reconnaissance.

A MES SŒURS — A MA TANTE

A MES AMIS

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE

A Monsieur le Professeur agrégé Roger FABRE

Chargé du Cours complémentaire de Physiologie,
Médaille militaire,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.

Qu'il veuille bien trouver ici l'hommage de ma profonde gratitude pour la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée.

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur H. DELAUNAY

Professeur de Chimie biologique et médicale,
Membre correspondant de la Société de Biologie,
Docteur ès sciences,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.

Qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour tous les conseils qu'il m'a si bienveillamment donnés au cours de l'élaboration de cette thèse et pour avoir bien voulu me faire l'honneur de la présider.

RECHERCHES

SUR LA

RÉPARTITION DU GLUTATHION

DANS LES

ORGANES DES ANIMAUX INFÉRIEURS

INTRODUCTION

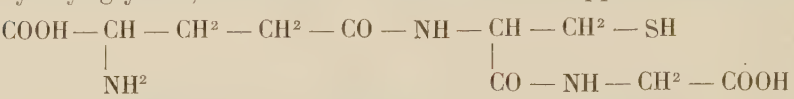
De Rey Pailhade, reprenant, en 1888, des expériences entreprises par J.-B. Dumas, constata que les cellules de la levure de bière et beaucoup de tissus vivants, mis en présence de soufre, dégageaient de l'hydrogène sulfuré. Il attribua cette propriété à la molécule protidique et admit que la réduction était due à une substance spéciale : le philothéion, représentée schématiquement par la formule R — SH, lequel, par oxydation, donnerait le philothion R — S — S — R.

Depuis, de nombreux travaux ont été faits, et, en 1921, Hopkins a réussi à isoler de la levure de bière, du muscle et du foie des Mammifères, un composé soluble auquel il a donné le nom de « Glutathion ».

Durant les dix dernières années, l'étude des composés sulfhydrylés des tissus a fait de très grands progrès; en effet, le glutathion isolé par Hopkins fut l'objet d'une étude chimique très précise; son dosage dans le sang et les tissus a donné lieu à de nombreuses recherches qui ne furent pas

toujours concordantes, mais qui permirent néanmoins de mettre en évidence son rôle capital dans la respiration des cellules et dans le mécanisme de l'oxydo-réduction.

La forme d'un dipeptide : la glutaminyl-cystéine, lui fut attribuée par Hopkins, Quastel, Stewart et Tunnicliffe, mais plus récemment divers auteurs, dont Hopkins lui-même, Kendall et Masson en ont fait un tripeptide : la glutaminyl-cystéyl-glycine, dont voici la formule développée :



Glutathion réduit.

Le glutathion existe en quantité variable dans tous les tissus; on le rencontre sous ses deux formes : l'une réduite, le glutathion réduit, de formule schématique R — SH; l'autre oxydée, le glutathion oxydé, de formule R — S — S — R.

Le glutathion et vraisemblablement d'autres peptides analogues paraissent bien être les représentants des systèmes sulfurés, car Thompson et Voegtlin ont montré que les extraits trichloracétiques de foie, de muscle, de cerveau et de rein ne donnent pas de réaction avec la naphtoquinone, et, par suite, ne renferment ni cystine, ni cystéine.

D'après ces auteurs, il se trouve dans les extraits trichloracétiques presque exclusivement sous sa forme réduite R — SH et pour moins de 10 p. 100 sous sa forme oxydée R — S — S — R.

Toutefois, il est certain qu'il existe, à côté du glutathion, d'autres substances sulfurées actives, telles que celle qui a été signalée par Campbell et Gerling et identifiée à l'ergothionéine de Tanret, le sucre sulfuré qui a été isolé de la levure et aussi le dérivé thiophénolique existant dans la surrénale.

Sur les conseils de M. le Professeur Delaunay, nous avons étudié la teneur en glutathion réduit et oxydé des organes chez les animaux inférieurs (Invertébrés, Poissons, Batraciens) dans le but de préciser sa répartition et de tirer, le cas échéant, des données recueillies, une indication sur son rôle.

Le plan de notre travail a été le suivant :

Chapitre I. — *Aperçu historique.*
Chapitre II. — *Choix d'une méthode de dosage du glutathion. Description de cette méthode.*
Chapitre III. — *Animaux étudiés, mode de prélèvement des tissus et du sang.*
Chapitre IV. — *Exposé de nos recherches pour chaque espèce animale en suivant l'ordre zoologique.*

Enfin, dans un dernier chapitre, nous nous sommes efforcé de tirer des conclusions des résultats de nos expériences et nous avons essayé d'en dégager la signification au point de vue biologique.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Nous nous sommes inspiré, pour la rédaction de ce chapitre, de la thèse de Mlle Régnier [50] et des travaux de Blanchetière.

L'intervention des systèmes oxydo-réducteurs sulfurés comme le glutathion a attiré l'attention de nombreux expérimentateurs, qui dirigèrent leurs recherches sur la présence de ce corps dans les tissus végétaux et animaux.

Ils ont délimité son champ d'action, et, avec de nombreuses et différentes méthodes de dosage, ils arrivèrent à des résultats comparables pour la plupart. Ce problème a été étudié à différents points de vue : 1° diffusion de ces composés; 2° leur localisation; 3° leurs variations dans les divers états physiologiques et pathologiques.

Chez les végétaux.

a) *Végétaux inférieurs.* — Dès son premier mémoire, Hopkins a confirmé les conclusions de Gola, touchant l'existence de thio-groupes libres chez les végétaux, mais en quantité infiniment moins grande que dans les tissus animaux. On a trouvé du glutathion dans les végétaux dits inférieurs, comme les levures et les bactéries. La levure de bière en renferme des taux variables allant de 150 à 200 mg. pour 100 g. de levure fraîche. Blanchetière et Melon ont rencontré cependant des levures de boulangerie dépourvues de glutathion réduit, bien que relativement riches en glutathion oxydé. La teneur en glutathion des bactéries est très variable, d'après les travaux de Mc Leod et Gordon et de Callow

et Robinson. Elle a été recherchée par la méthode au nitroprussiate avec les résultats suivants :

Réaction positive : *Bacillus welchii, Bacillus tetani, Bacillus paratyphosus, Bacillus typhosus, Bacillus piocyaneus, Vibrio septicus* et *Vibrio cholœrae;*

Réaction négative : Staphylocoque, streptocoque, pneumocoque, gonocoque, méningocoque, *Bacillus dysentericus* Flexner, Y. Shiga et *Bacillus coli.*

b) *Végétaux supérieurs.* — Gola, dès 1903, a mis en évidence des thiogroupes libres, en particulier chez les végétaux en voie de prolifération. Kolowski observa que les tissus de réserve et le latex donnaient aussi une réaction positive avec le nitroprussiate. Il montra que la cystine existe sous forme de glutathion et peut être de cystine libre chez le Pois, *Pisum sativum*, les tubercules de *Solanum tuberosum*, le Latex de *Lactuca sativa* et aussi les graines d'Iris, de Scille, de *Papaver*, de *Primula* et d'*Helianthemum*.

Joyet-Lavergne fit des études sur les Phanérogames et trouva une réaction intense chez la *Viola tricolor, Primula officinalis* et les graines d'Iris, ainsi que chez les Prêles et les Champignons (*Saprolegnia*).

Chez les animaux.

Répartition dans la série animale. — Buffa, en 1904, observa que la réaction au nitroprussiate était donnée par certains animaux, et, en 1911, Arnold généralisa cette observation : Hop chez le Ver de terre, l'Huître, l'Ecrevisse, la Raie, la Morue et la Grenouille. Shearer [51] observa que les œufs d'*Echinus miliaris* renfermaient de fortes quantités de glutathion réduit. Enfin, Blanchetière et Melon [18] ont examiné, au point de vue de leur teneur en glutathion, un certain nombre d'animaux inférieurs. Chez les Coelentérés, les Echinodermes et les Annélides, la teneur oscille entre 50 et 70 mg. pour 100 g. d'animal total. Par contre, les Poissons ont de beaucoup la teneur la plus faible. Boucher-Firly [22] a fait des travaux chez l'Anguille et le Congre, que nous avons exposés plus loin (chapitre IV).

Les Mammifères ont la teneur la plus forte en glutathion. Chez le Rat albinos, Thompson et Voegtlin [52] ont donné les chiffres suivants : 60 mg. pour 100 g. (animal entier) à l'état embryonnaire; 23 mg. pour 100 g. (adulte). D'après ces auteurs, le glutathion, chez le Rat, diminue avec l'âge; le sérum n'en contient pas, seules les hématies en sont pourvues.

Répartition dans les tissus. — Si la répartition du glutathion dans les divers tissus a été souvent étudiée chez les Mammifères, elle a fait l'objet de fort peu de travaux pour le reste du règne animal.

Daniel et Doran [26] recherchèrent le glutathion chez *Mytilus edulis* et constatèrent que les muscles adducteurs donnaient une réaction positive qui ne disparaissait que lentement; les produits reproducteurs donnaient, au contraire, une réaction forte; le pied ne donnait qu'une faible réaction au nitroprussiate.

Blanchetière et Melon [18], au laboratoire de Tamaris-sur-Mer, firent de nombreux dosages chez les animaux marins *in toto*, mais n'ont donné que peu de chiffres pour les divers organes de l'animal.

C'est pourquoi il nous a paru intéressant de combler cette lacune et de donner un tableau aussi précis que possible de la répartition du glutathion dans les différents organes des animaux inférieurs.

En résumé, les travaux exécutés jusqu'à ce jour chez les Vertébrés ont permis de conclure que :

1° dans le sang, le glutathion est localisé dans les hématies; le sérum n'en contient pas;

2° les variations individuelles sont importantes;

3° la gamme de richesse en glutathion, en ordre décroissant, serait celle-ci : foie, rein, rate, poumon et muscle;

4° le foie semble être l'organe le plus riche, bien que les glandes comme la surrénale, la thyroïde et les organes génitaux en soient très amplement pourvus.

CHAPITRE II

TECHNIQUE — CHOIX D'UNE METHODE DE DOSAGE

Les méthodes de dosage du glutathion réduit utilisent son pouvoir réducteur ou son pouvoir de provoquer une absorption de O^2. Elles sont volumétriques ou colorimétriques.

La méthode colorimétrique de G. Hunter et B. A. Eagles [36], proposée antérieurement par Folin et Looney pour le dosage de la cystéine, utilise la coloration fournie par le réactif phospho-tungstique en milieu alcalin.

La méthode volumétrique de Tunnicliffe consiste essentiellement à mesurer l'absorption de O^2 dans des conditions convenables de réaction et de température dans un appareil du type manomètre différentiel de Barcroft.

Binet et Weller [12] ont récemment proposé d'isoler d'abord le glutathion dans les filtrats trichloracétiques par précipitation avec du lactate de cadmium à un pH de 6,8 à 7 et de doser ensuite dans le précipité le glutathion réduit. Il faut éviter avec soin, lors de la précipitation, un pH trop alcalin qui favorise l'oxydation du groupement sulfhydrile. On se sert comme indicateur d'une solution de bleu de bromothymol et l'on ajoute une solution d'hydroxyde de Na à 2 p. 100 jusqu'à virage au pH de 6,8 à 7. Nous avons essayé cette méthode, mais le virage est très difficile à saisir pour les extraits trichloracétiques des tissus, surtout lorsqu'ils sont très colorés, ce qui est le cas le plus fréquent chez les Invertébrés.

La méthode à l'iode de Tunnicliffe a été la plus employée, et c'est elle que nous avons utilisée. Elle consiste à oxyder par l'iode les groupements R — SH, en prenant comme indi-

cateur de la fin de la réaction le nitroprussiate de sodium en solution ammoniacale.:

$$2\ R - SH + 2\ I = 2\ IH + R - S - S - R.$$

Cette réaction a été utilisée par Heffter, par Arnold, Fabre et Mme Randoin [47], Thompson et Voetglin [52].

D'autre part, Blanchetière et Binet [17], puis Blanchetière et Melon [19], ont dosé le glutathion par l'iode en présence d'empois d'amidon, méthode qui, d'après Tunnicliffe, Thompson et Voetglin, Kennaway et Hieger, Fabre, Simonnet et Mme Randoin, donne des résultats plus élevés que la méthode au nitroprussiate. Blanchetière et Melon ont confirmé d'ailleurs l'opinion de ces divers auteurs et ont attribué cette divergence de résultats à la sensibilité plus grande de la réaction à l'empois d'amidon.

La question s'est donc posée de savoir lequel des deux indicateurs doit être utilisé ?... Il semble résulter des travaux de Blanchetière et Melon [19] que la méthode à l'iode en présence d'empois d'amidon, quoiqu'elle puisse conduire à des résultats trop forts, doit être préférée à la méthode au nitroprussiate, qui, elle, conduit certainement à des résultats trop faibles et n'est pas plus rigoureusement spécifique par suite de son peu de sensibilité.

Dans nos recherches, nous avons utilisé l'empois d'amidon comme indicateur, la quantité de glutathion dans les organes des animaux inférieurs n'étant pas suffisante pour utiliser la méthode au nitroprussiate.

Nous ne nous dissimulons pas les imperfections de cette méthode. Il est possible que, en plus du glutathion, d'autres corps présents dans les filtrats trichloracétiques soient capables de fixer de l'iode. Suivant l'exemple de Blanchetière, de Fabre, de Mlle Régnier, nous avons cependant exprimé en glutathion « l'indice d'iode » des filtrats trichloracétiques.

Un autre problème s'est posé au début de nos recherches : le titrage direct ou le titrage en retour du glutathion par iodométrie.

Nous avons successivement essayé les deux méthodes et

nous sommes arrivé aux mêmes conclusions que Delaville et Kowarski [27]. Nous avons constaté que :

1° le titrage en retour donnait des résultats beaucoup plus forts que le titrage direct;
2° le résultat est d'autant plus fort que le contact avec l'iode a été plus prolongé.

Nous avons préparé une solution de cystéine (Hoffman-La Roche), à 50 mg. pour 100 cm³ d'eau distillée. Par dosage indirect, nous avons obtenu les résultats suivants (en mg.) :

Prise d'essai : 2 cm³ = 1 mg. de cystéine.
Temps de contact de :

30 secondes	1 minute	5 minutes	10 minutes
0,9539	1,04	1,21	1,36
0,968	1,08	1,16	
0,9539	1,02		

Ces résultats montrent nettement qu'il est difficile d'arriver à une valeur stable. Le titrage iodométrique direct, en présence d'empois d'amidon, nous a donné satisfaction. Pour nous assurer de la valeur de cette méthode directe, nous avons fait une solution de glutathion pur (Hoffmann-La Roche) à 50 mg. pour 100 cm³ d'eau distillée et nous avons effectué les dosages.

Prise d'essai : 2 cm³ = 1 mg. de glutathion en présence de 10 cm³ d'acide trichloracétique à 10 p. 100. Nous avons trouvé (en mg.) :

1,05	1,04	0,914	1,06	moyenne : 1,02
1,06	1,04	0,933	1,07	
1,07	1,04	1,04	0,914	

Cette méthode par titrage direct donne de bons résultats et évite l'intervention du facteur temps de contact; elle nous a paru plus précise et plus régulière que la méthode indirecte.

Nous avons également cherché une méthode pour doser le glutathion total, qui, par différence avec le glutathion réduit, donne le glutathion oxydé. Pour évaluer le glutathion total, Bierich et Kalle ont dosé la totalité du soufre organique des

filtrats de sang et des tissus. Un certain nombre d'auteurs ont dosé le glutathion total par le même procédé que le glutathion réduit, le glutathion oxydé ayant été au préalable réduit par des procédés divers.

Hunter et Eagles [36] ont réduit le glutathion par l'acide phospho-tungstique et le sulfite de sodium. Thompson et Voegtlin ont recueilli le sang dans l'acide trichloracétique et ont réduit le glutathion oxydé contenu dans le filtrat trichloracétique par la poudre de magnésium. Hess a effectué la réduction du glutathion oxydé à l'ébullition par hydrogénation en présence de poudre de zinc et d'acide chlorhydrique. Gabbe a utilisé la réduction par l'acide sulfo-tungstique; enfin, Delaville et Kowarski ont traité le filtrat trichloracétique par le couple zinc-cuivre.

Nous avons essayé l'action directe du zinc dans le filtrat trichloracétique acidifié par l'acide chlorhydrique. Nous avons pris pour nos essais une solution de cystine (Hoffman-La Roche) correspondant à 1 mg. par cm³ et nous avons fait agir l'acide chlorhydrique en présence d'aiguilles de zinc distillé et pur ou de zinc amalgamé, en contact pendant dix minutes. Nous avons dosé la cystéine formée par la méthode directe avec l'iode N/100.

Prise d'essai : 1 cm³ = 1 mg. de cystine, qui, après hydrogénation, correspond à 1 mg. 008 de cystéine.

Nous avons trouvé (en mg.) :

1,02	1,04	1,04	1,04	Moyenne : 1,06
1,05	1,10	1,14	1,14	
1,08	1,10	1,04	1,02	

Ces résultats, constants et comparables, montrent la valeur de cette méthode.

Préparation des extraits acides. — Aussitôt la mort de l'animal, un poids P connu de tissu (environ de 0 g. 50 à 3 g.) est haché finement et rapidement; la pulpe, mélangée avec du sable lavé, est traitée par 20 cm³ d'acide trichloracétique à 10 % (par extractions successives à l'aide de 5 cm³). On transvase le tout dans deux tubes à centrifuger. On centrifuge pendant quatre à cinq minutes. La solution, claire, est décantée avec précaution dans un ballon jaugé de 20 cm³. Complé-

ter à l'aide d'un burette par l'acide trichloracétique à 10 % jusqu'au trait de jauge. Agiter. Ce liquide est ensuite divisé en deux parts de 10 cm³.

Dosage du glutathion réduit (GR). — A 10 cm³ d'extrait trichloracétique, on ajoute 1 cm³ de réactif à l'empois d'amidon, puis goutte à goutte, une solution titrée d'iode N/100 jusqu'à teinte bleue stable. Soit n cm³.

Une correction doit être faite, car certaines solutions pures d'acide trichloracétique à 10 % captent une petite quantité d'iode N/100, soit x cm³, cette quantité exprimée en cm³ qui est déduite du volume n trouvé précédemment.

$(n - x)$ correspond donc à l'iode qui a servi à l'oxydation du glutathion. P représente en g. le poids du tissu.

$$\frac{(n - x) \times 307}{\frac{P}{2}} = \text{GR en mg. pour 100 g. de tissu.}$$

(1 cm³ d'iode N/100 correspond à 3 mg. 07 de glutathion.)

Dosage du glutathion total (GT). — A 10 cm³ d'extrait trichloracétique, on ajoute 1 g. de zinc en aiguilles distillé et pur ou de zinc amalgamé et 2 cm³ d'HCl pur. Après un contact de dix minutes, filtrer la solution avec soin et doser comme précédemment en tenant toujours compte de la quantité d'iode N/100 que captent 10 cm³ d'acide trichloracétique après hydrogénation.

$$\frac{(n' - x') \times 307}{\frac{P}{2}} = \text{GT en mg. pour 100 g. de tissu.}$$

Glutathion oxydé (GO). — Il a été calculé par différence :

$$GT - GR = GO \text{ en mg. pour 100 g. de tissu.}$$

Zinc amalgamé (Technique de M. le Professeur Denigès pour le réactif hydrostrychnique). — Dans un tube à essai, verser du zinc en grenaille, 2 cm³ HCl concentré, 5 cm³ H^2O. Agiter pendant deux minutes. Ajouter ensuite 1 cm³ d'une solution saturée de bichlorure de mercure et agiter pendant une

minute, puis décanter le liquide. Laver le zinc à plusieurs reprises avec de l'eau distillée.

Préparation de l'empois d'amidon. — 2 g. d'amidon, ajouter 100 cm³ d'eau froide contenant 0 g. 05 de bichlorure de mercure. Verser par petites fractions de l'eau bouillante. Faire bouillir trente à quarante minutes. La liqueur refroidie, compléter à 1.000 cm³ avec de l'eau distillée. Cette solution se conserve au moins un mois.

CHAPITRE III

LISTE DES ANIMAUX ETUDIES ET MODE DE PRELEVEMENT DES TISSUS ET DU SANG

Nos recherches ont porté surtout sur des animaux marins appartenant à des espèces communes. La proximité de la Station biologique d'Arcachon a beaucoup facilité notre tâche. Aussi nous remercions vivement son directeur, M. le Professeur R. Sigalas, qui a aimablement mis à notre disposition le matériel scientifique et les animaux des Laboratoires marins. Au cours de nos travaux, nous avons examiné en outre un certain nombre d'animaux terrestres, de sorte que nos recherches portent sur un assez grand nombre de groupes. Les uns sont essentiellement carnivores (Astérie, Seiche), d'autres herbivores (Aplysie, Escargot), d'autres se nourrissent de matériaux nutritifs contenus dans le sable, la terre et la vase (Siponcle, Arénicole); d'autres, enfin, comme les Lamellibranches, trouvent leur alimentation dans les matières en suspension dans l'eau de mer.

Liste des animaux étudiés :

Echinodermes :

Asterias rubens L.;
Paracentrotus lividus Lamarck.

Vers :

Arenicola piscatorum;
Sipunculus nudus.

Crustacés :

Carcinus moenas L.;
Nevrops norvegicus;
Cancer pagurus;
Homarus vulgaris;
Astacus fluviatilis.

Mollusques :

A. *Lamellibranches :*

Gryphœa angulata Lamarck;
Ostrea edulis;
Mytilus edulis;
Pecten jacobaeus L.;
Mya arenaria;
Cardium edule;
Scrobicularia plana;
Petunculus.

B. *Céphalopodes :*

Sepia officinalis.

C. *Gastéropodes :*

Helix aspersa Muller;
Littorina littorea;
Buccinum undatum.

Poissons :

Anguilla vulgaris;
Barbus fluviatilis;
Cyprinus carpio;
Petromyzon marinus L.;
Petromyzon Planeri;
Protopterus aethiopicus.

Batraciens :

Rana temporaria.

Récolte des matériaux d'études.

Plusieurs causes d'erreurs provenant d'un mode défectueux de prélèvement peuvent altérer les résultats. Il faut prélever les organes alors que les animaux sont bien vivants et non pas sur des animaux en mauvais état. C'est pourquoi nous avons pris soin de placer nos animaux dans les meilleures conditions. Les animaux qui supportent bien le transport

(Oursins, Siponcles, Crabes, etc.) ont été expédiés de la Station biologique d'Arcachon et placés dans l'eau de mer aussitôt leur arrivée. Certains animaux, tels que la Seiche, qui sont intransportables, ont été sacrifiés au moment de leur capture à Arcachon.

Nous avons étudié aussi la répartition du glutathion dans quelques Poissons d'eau douce, qui ont été mis dans de l'eau distillée jusqu'au moment du prélèvement.

Une dernière cause d'erreur est plus difficile à éviter : les prélèvements doivent être effectués dans un laps de temps très court, car la teneur en glutathion d'un organe diminue rapidement après la mort. Nous avons fait le plus souvent nos dosages immédiatement après le sacrifice de l'animal, mais, dans quelques cas, ne pouvant effectuer les dosages sur place, nous avons dû conserver durant vingt-quatre ou quarante-huit heures le matériel prélevé. Morel et Delore [46] ont utilisé le moyen très simple de la frigorification, qui arrête les phénomènes diastasiques, et montré que les tissus maintenus à basse température à la glacière conservent le taux de leur glutathion pendant plusieurs jours. Nous avons employé le même procédé, après vérification : dans ce but, nous avons prélevé les organes du Rat blanc et dosé comparativement le glutathion dans diverses conditions. Nos résultats (moyenne) sont les suivants :

	Foie	Rein	Rate	Muscle
a) Immédiatement après la mort de l'animal	240	147	186	15
b) Abandonnés à la température du laboratoire pendant 24 heures (mois de décembre)	178	120	150	8
c) Conservés pendant 3 jours à la glacière.	197	129	156	10

La réfrigération s'oppose donc d'une façon notable à la diminution du glutathion, cependant elle entraîne des pertes. C'est seulement pour la Seiche que nous avons été dans l'obligation d'utiliser ce procédé.

Les organes le plus souvent étudiés ont été les branchies, l'hépato-pancréas, les organes génitaux, les œufs et les muscles. Parfois, nous avons aussi prélevé le sang, la peau

et les liquides cavitaires. L'organe prélevé a été débarrassé de tous les tissus étrangers qui l'entourent, essoré soigneusement sur du papier filtre ordinaire et pesé. Les prélèvements ont varié de 0 g. 50 à 3 g. Aussitôt après la pesée, l'organe a été trituré dans un mortier avec du sable lavé et épuisé successivement par 20 cm^3 d'acide trichloracétique à 10 p. 100.

CHAPITRE IV

ETUDE ANALYTIQUE

I. — ECHINODERMES

Au laboratoire de Tamaris-sur-Mer, Blanchetière et Melon [18] ont fait des analyses qui ont porté le plus souvent sur l'animal dépouillé de ses parties squelettiques. A notre connaissance, c'est le seul travail sur les Invertébrés marins qui ait été fait. Pour les Echinodermes, ces auteurs ont donné pour l'Etoile de mer, *in toto*, 52 mg. de glutathion réduit pour 100 g. de tissu frais; pour l'Oursin, 50 mg.; enfin, pour l'Holothurie, 54 mg. Ils n'ont pas indiqué dans quel organe le glutathion se trouve en plus grande abondance et dans quelle proportion.

Asterias rubens.

Avant de prélever les organes, nous avons recueilli le liquide cavitaire par section de l'extrémité des bras, l'Etoile de mer étant placée dans la position verticale au-dessus d'un verre à pied. Une incision a été pratiquée à la partie supérieure de chaque bras, allant de l'extrémité au disque central. En écartant les parois, on aperçoit les glandes génitales et l'hépato-pancréas, de couleur plus foncée, que l'on recueille séparément et que l'on essore avec soin avant de les peser.

	Astérie 1 (Janv.)		Astérie 2 (Janv.)		Astérie 3 (Mars)	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—	—	—
Liquide cavitaire.....	3	27	3	21	4	30
Hépato-pancréas	88	14	90	22	73	13
Glandes génitales.....	61	2	71	2	64	1

De l'examen de ce tableau, il résulte que l'hépato-pancréas est l'organe le plus riche en glutathion réduit; que les glandes génitales en contiennent des quantités importantes, mais moindres. Le glutathion oxydé paraît se trouver en quantité notable dans le liquide cavitaire.

Paracentrotus lividus.

L'Oursin a été d'abord saigné par incision de la membrane qui entoure l'appareil masticateur, puis il a été ouvert par une incision circulaire. On distingue cinq glandes volumineuses, qui sont les glandes génitales. Les sexes sont séparés : les glandes sont roses chez les mâles et brunes chez les femelles.

	Oursin 1 (Janvier)		Oursin 2 (Mars)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	4,2	1,3	4,9	1,9
Glandes génitales ♂	160	5	104	28
Glandes génitales ♀	266	6	214	31
Plasma	—	—	2,4	1,6
Éléments figurés	—	—	2,5	3,1

Les glandes génitales contiennent une quantité importante de glutathion réduit; le sang n'en contient qu'une très faible proportion.

II. — VERS

Peu de recherches ont été faites chez les Vers Annelides. Blanchetière et Melon [18] n'ont donné qu'un seul chiffre : 65 mg. de glutathion réduit pour le *Spirographus elegans*.

Arenicola piscatorum.

Nous avons recherché le glutathion chez l'animal entier et dans le liquide cavitaire. Celui-ci a été recueilli par incision faite un peu au-dessous de la tête, en prenant soin de ne pas sectionner les deux vaisseaux sanguins : l'un dorsal,

l'autre ventral. On recueille le liquide, qui est jaune rosé et contient de l'albumine en grande quantité.

	Arénicole (Janvier)	
	GR	GO
	—	—
Liquide cavitaire	15	24
Animal entier	29	7

Sipunculus nudus.

La vaste cavité coelomique du Siponcle renferme en abondance un liquide rosé qui tient en suspension divers éléments figurés qui ont été ainsi classés : hématies, amibocytes variés, vésicules énigmatiques, produits génitaux. Les hématies renferment de l'hémérythrine, pigment ferrugineux, qui, en fixant l'oxygène de l'air, se colore en rouge violacé.

Récolte des hématies et des éléments blancs. — Pour recueillir le sang total, on fait une incision légèrement oblique vers la tête de l'animal pour éviter de perforer l'intestin : le sang s'écoule avec force; il a été recueilli dans un grand verre à pied. Par compression légère et graduelle, l'animal est saigné complètement. Le sang, après agitation, est ensuite centrifugé. Dans le culot, on obtient trois zones : la première, inférieure, est constituée par les hématies rouge-brun; au-dessus, les éléments blancs et les organes reproducteurs, puis le plasma. Il est possible de recueillir séparément, par aspiration, les hématies et les éléments blancs.

	Siponcle 1 (1)		Siponcle 2 (2)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Hématies	40	6	1,2	5,5
	42	7	—	—
Éléments figurés	79	3	18	1
Plasma	0	0	0	0
Sang total	—	—	4,9	2,4

Il nous a paru intéressant de voir si l'asphyxie était susceptible de modifier la glutathionémie : 3 Siponcles ont été

(1) Glutathion en mg. pour 100 cm³ d'hématies et 100 cm³ d'éléments figurés.

(2) Glutathion en mg. pour 100 cm³ de sang.

laissés pendant quinze heures dans un flacon clos, entièrement rempli d'eau de mer. Le sang a été recueilli à l'aide d'une seringue enduite d'huile de vaseline, afin d'éviter tout contact avec l'oxygène de l'air. Les essais ont été répétés deux ou trois fois; ils ont donné des résultats concordants, dont voici les chiffres moyens (en mg. pour 100 cm³ de sang).

	Siponcle 3	
	GR	GO
Sang total.....	49	0

Nous avons aussi étudié le muscle de la peau : 34 mg. en GR et 18 mg. en GO; le muscle rétracteur de la trompe : 56 mg. en GR et 23 mg. en GO.

En résumé :

1° La répartition du glutathion dans le sang total du Siponcle est la suivante : les éléments blancs (amibocytes, produits génitaux, urnes ciliées) ont la teneur la plus forte en glutathion réduit (79 mg.), mais contiennent peu de glutathion oxydé (3 mg.); les hématies contiennent du glutathion réduit en quantité plus faible (40-42 mg.) et du glutathion oxydé en quantité appréciable (6-7 mg.). Le plasma ne contient pas de glutathion.

2° L'asphyxie montre que le glutathion oxydé tombe à zéro dans le sang total, alors que le glutathion réduit augmente beaucoup (environ dix fois plus).

3° Le muscle de la peau et de la trompe est relativement riche en glutathion réduit et oxydé.

III. — CRUSTACES

Blanchetière et Melon [18] ont donné les chiffres suivants pour l'animal entier : Crabe (*Xanthirivulosus*), 74 mg.; Crabe (*Portunus puber*), 56 mg.; *Balanus*, 161 mg., et Araignée de mer, 111 mg.

Carcinus moenas.

Nos prélèvements ont porté sur deux Crabes à la fois. Le sang a été prélevé par section d'une patte. Les résultats des dosages effectués aussitôt la réception des animaux figurent au tableau suivant :

	Janvier			
	Lot 1		Lot 2	
	GR	GO	GR	GO
Sang	3	6	3	6
Branchies	18	12	47	16
Hépato-pancréas	110	14	113	19
Muscle	33	8	36	18

Il nous a paru intéressant d'observer si la vie aérienne et la vie aquatique avaient une influence sur la teneur en glutathion. Dans ce but, nous avons laissé deux Crabes pendant vingt-quatre heures à l'air (Lot 3), et placé pendant trois jours, dans un cristallisoir contenant de l'eau de mer, deux autres Crabes (Lot 4). Il semble que dans la vie aquatique la teneur en glutathion des organes du Crabe est plus élevée que dans la vie aérienne.

Au mois de mars, nous avons recommencé l'expérience sur six Crabes : 3 ont été placés pendant vingt-quatre heures à l'air; 3 autres ont été mis pendant plusieurs jours dans un cristallisoir contenant de l'eau de mer (Lot 6).

	Janvier				Mars			
	Lot 3 (air)		Lot 4 (eau de mer)		Lot 5 (air)		Lot 6 (eau de mer)	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO	GR	GO
Sang	3	12	3	9	2	28	2	22
Branchies	26	15	23	27	49	13	52	8
Hépato-pancréas	110	14	171	12	153	7	186	5
Muscle	37	10	33	16	46	20	56	30
Moyenne	44	12	57	16	62	17	74	16

Comme au mois de janvier, nous avons trouvé que la moyenne du glutathion réduit et oxydé est sensiblement plus élevée lorsque l'animal vit dans l'eau de mer. Cependant, il faut noter que la hausse a été plus sensible (62-74) au mois de mars qu'au mois de janvier (44-57).

Chez le Siponcle, placé en anaérobiose, nous avions remarqué une hausse du glutathion dans le sang; nous avons voulu voir si, dans les organes du Crabe, nous retrouverions ce même phénomène. Nous avons fait deux expériences qui correspondent aux lots 7 et 8.

Un Crabe est placé, pendant quinze heures, dans un flacon rempli entièrement d'eau de mer et bouché hermétiquement afin d'éviter tout contact avec l'air. L'animal épuise peu à peu l'oxygène et se trouve rapidement en état d'asphyxie. A la fin de l'expérience, il semble mort, ne respire plus, ne réagit pas, et cependant le cœur continue à battre régulièrement. Nous avons constaté que la teneur en glutathion de l'hépato-pancréas est augmentée sensiblement (208-261 mg.) par rapport aux animaux normaux, dont la teneur la plus élevée a été de 153 à 186 mg.

	Mars			
	Lot 7		Lot 8	
	GR	GO	GR	GO
Branchies	23	23	44	20
Hépato-pancréas	208	14	262	12

Cancer pagurus.

Le Crabe tourteau était un mâle, qui pesait 770 g. Il a été placé dans l'eau de mer pendant quarante-huit heures et sacrifié (janvier). Le deuxième animal, d'un poids de 900 g., a été sacrifié au mois de mars. Les résultats des dosages sont donnés dans le tableau qui suit :

	Crabe 1 ♂. (Janvier)		Crabe 2 ♂. (Mars)	
	GR	GO	GR	GO
Sang	3	21	3	24
Branchies	20	10	31	13
Hépato-pancréas	133	10	122	21
Muscle de la pince	55	2	50	3
Glandes génitales	126	4	92	2
Cœur	61	31	90	22
Peau pigmentée, rouge au-dessus des organes	110	14	94	16

Les quantités de glutathion sont sensiblement les mêmes chez le Tourteau que chez le Carcin : cependant, la moyenne du Tourteau est plus élevée. On remarquera aussi la quantité considérable de glutathion réduit que contient la peau recouvrant les muscles de la pince. Cette membrane dermique sert à former la carapace au moment de la mue. Ce fait ne doit pas nous surprendre, puisque Buffa nota que, même chez l'Homme, la peau donnait une réaction fortement positive au nitroprussiate de Na.

Homarus vulgaris.

Pour disséquer le Homard, on fait une incision avec de forts ciseaux sur le pourtour de la carapace dorsale du céphalothorax. Auparavant, on saigne l'animal par section de l'extrémité de la queue. Au cours de nos recherches, nous avons noté la coloration verte obtenue en traitant l'hépato-pancréas par l'acide trichloracétique, la coloration rouge vif avec les œufs en formation et la teinte rosée obtenue avec le sang et les muscles. Ce phénomène est dû à la présence de pigments caroténoïdes, contenus en assez grande abondance dans les tissus de l'animal.

Les résultats de nos recherches ont été réunis dans le tableau suivant :

	Homard ♀. (Février)		Homard ♂. (Mars)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	3	12	3	12
Branchies	34	40	39	16
Hépato-pancréas	178	32	115	19
Œufs en formation	60	16	—	—
Muscle	19	8	22	18
Peau	—	—	72	18

L'hépato-pancréas est l'organe le plus riche en glutathion. Les branchies en contiennent une quantité notable, moindre cependant que celle de l'hépato-pancréas. Les muscles et le sang en ont peu.

Nevrops norvegicus.

Par une incision latérale, nous avons enlevé la carapace du céphalothorax et nous avons prélevé successivement les branchies, puis l'hépato-pancréas et les muscles abdominaux. Le sang a été prélevé par section de la queue. Les dosages ont été exécutés sur une moyenne de 2 animaux à chaque expérience.

	Langoustine 1 (Janvier)		Langoustine 2 (Avril)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	4,6	22	3,4	20
Branchies	46	17	51	17
Hépato-pancréas	109	12	110	15
Muscle	20	7	21	6

Au mois d'avril, nous retrouvons la même moyenne qu'au mois de janvier. Le glutathion se trouve donc en grande partie dans l'hépato-pancréas et les branchies, le muscle n'en contient que peu. Le sang a une très grande quantité de glutathion oxydé. Les œufs mûrs ont une teneur de 33 mg. en glutathion réduit et de 5 mg. en glutathion oxydé.

Astacus fluviatilis.

Chez l'Ecrevisse, nous avons prélevé les branchies, les œufs et du muscle de l'abdomen. Les résultats de nos recherches sont les suivants :

	Écrevisse 1 (Mars)		Écrevisse 2 (Mai)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	2,4	27	3	26
Branchies	17	52	26	19
Hépato-pancréas	106	22	162	11
Muscle	28	26	53	3
Œufs	51	2	33	10

Comme chez tous les autres Crustacés, l'hépato-pancréas de l'Ecrevisse est de beaucoup l'organe le plus riche en glutathion réduit (106-162 mg.). Le sang ne contient que peu de glutathion réduit, mais, par contre, beaucoup de gluta-

thion oxydé. Les muscles de l'abdomen renferment une quantité de glutathion réduit et oxydé plus grande que chez le Homard et la Langoustine.

IV. — MOLLUSQUES

Blanchetière et Melon [18], pour les Mollusques, ont donné des chiffres pour le glutathion réduit (animal entier) : *Trocochlea articulata*, 59 mg.; *Patella coerulea*, 60; *Murex trunculus*, 72; *Pinna nobilis*, 47; *Mytilus edulis*, 98; *Venus verrucosa*, 59; Seiche, 58. Ces auteurs ont aussi donné quelques chiffres pour le muscle et le foie : chez *Mytilus edulis*, 109 pour le muscle et 83 pour le foie. Ces chiffres expriment la quantité de glutathion réduit pour 100 g. d'animal.

A. — Lamellibranches.

Gryphoea angulata. — Ostrea edulis.

Nos prélèvements ont été faits, en général, sur 3 ou 4 Huîtres, qui ont été disséquées, puis soigneusement essorées entre deux feuilles de papier filtre ordinaire. Nous avons successivement étudié l'hépato-pancréas, les muscles, les branchies et le manteau.

	Gryphœa 1 (Décembre)		Gryphœa 2 (Février)		Gryphœa 3 (Mars)		Ostrea (Janvier)	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—	—	—	—	—
Branchies et manteau.....	40	20	59	20	60	10	60	13
Masse viscérale.....	70	6	72	6	72	3	86	3
Muscle	14	20	43	40	27	40	34	20

De l'examen de ce tableau, il ressort qu'il existe des variations individuelles du taux du glutathion dans les organes et aussi des variations saisonnières. En mars, la teneur en glutathion est sensiblement plus forte qu'en décembre. Un fait curieux est aussi à signaler : la quantité élevée de glutathion oxydé que l'on trouve dans les muscles adducteurs chez tous les Lamellibranches.

Nous avons voulu voir si l'on retrouvait ce taux de glutathion dans l'Huître plate; les dosages nous ont montré que cette moyenne ne change sensiblement pas.

Mytilus edulis.

Pour disséquer ce Mollusque, il faut vaincre la résistance des deux muscles adducteurs : pour cela, on produit un léger écartement des valves et on insère aussitôt des petits coins en bois. On sectionne les muscles, l'animal est alors retiré de sa coquille.

Nous avons fait de nombreux prélèvements des organes de cet animal et nous en avons tiré une moyenne.

	Moule 1 (Janvier)		Moule 2 (1) (Avril)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
In toto	90	12	—	—
Hépato-pancréas	139	17	145	8
Branchies	66	12	62	15
Manteau	118	2	95	2
Glandes génitales	90	12	148	10
Muscle	65	28	85	39

Nous avons retrouvé la même moyenne chez l'animal en entier que dans les différents organes de ce Lamellibranche. On remarquera encore la quantité élevée de glutathion oxydé dans le muscle du pied. Chez la Moule de l'étang de Thau, les glandes génitales sont plus riches que les autres organes; on doit aussi noter qu'au mois d'avril elles sont en pleine reproduction.

Pecten jacobaeus.

Nous avons dosé le glutathion dans les organes suivants de la Coquille Saint-Jacques : dans les muscles adducteurs, dans le manteau, très mince en son milieu, et qui offre sur tout son pourtour un épaississement muni de tentacules délicats et d'organes visuels; dans les branchies, constituées par des lames fragiles qui se dissocient au moindre contact

(1) Moule de l'étang de Thau (Hérault), d'un poids moyen de 70 g.

en leurs filaments élémentaires et enfin dans la glande génitale, ou bosse de Polichinelle, qui est d'un beau rouge chez la femelle et blanchâtre chez le mâle.

Les dosages ont été étudiés sur 2 animaux, les résultats étant de même ordre, nous avons donné seulement le chiffre moyen dans le tableau qui suit :

	Coquille Saint-Jacques (Janvier)	
	GR	GO
	—	—
Organes génitaux ♀	107	5
Organes génitaux ♂	100	100
Hépato-pancréas	181	10
Branchies	37	31
Muscles adducteurs	26	11
Bord du manteau	36	11

Le glutathion réduit se trouve en grande abondance dans les organes génitaux et dans l'hépato-pancréas. La glande mâle renferme du glutathion oxydé en quantité égale au glutathion réduit (100 mg.).

Cardium edule — Scrobicularia plana.

Les Coques sont des animaux qui se tiennent très souvent enfoncés dans le sable, ne laissant dépasser que le bord de leur coquille, d'où sortent deux tubes courts à bords frangés. Nos dosages ont porté d'abord sur l'animal entier, puis sur les différents organes.

Le Scrobiculaire est un mollusque à coquille très molle, et très répandu sur nos rivages. Comme pour le Coque, nous avons fait divers prélèvements de façon à diviser l'animal en trois parties.

	Coque (Février)		Scrobiculaire (Avril)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
In toto	59	20	—	—
Masse viscérale	106	8	65	2
Branchies et manteau	71	15	49	2
Muscles adducteurs	26	30	23	20

Chez le Coque, il faut encore remarquer la grande quantité de glutathion oxydé dans les muscles adducteurs; la masse viscérale est très riche en glutathion réduit, mais peu en oxydé; enfin, nous avons retrouvé le même chiffre pour l'animal entier que dans la moyenne des différents organes.

Pour le Scrobiculaire, la masse viscérale est aussi la plus riche en glutathion réduit. Le glutathion oxydé se trouve en grande partie dans les muscles adducteurs de l'animal.

Mya arenaria — Petunculus.

Les siphons de la Mye sont si volumineux qu'ils ne peuvent rentrer dans la coquille, qui reste bâillante au repos.

Le Petoncle est un animal de même constitution que le Pecten. Il porte, lui aussi, sur le bord épaissi du manteau, un grand nombre de tentacules ou d'yeux. Nous avons prélevé les mêmes organes que chez les autres Lamellibranches et nous en avons fait les différents dosages que nous avons résumé dans un seul tableau :

	Mye (Mars)		Mye (Avril)		Petoncle (Mars)	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—	—	—
Masse viscérale.....	76	2	78	1	97	14
Branchies et manteau.....	42	20	45	15	67	23
Muscles adducteurs.....	40	30	34	20	34	16

La masse viscérale de la Mye est riche en glutathion réduit et contient très peu de glutathion oxydé. Les muscles adducteurs renferment plus de glutathion oxydé que les autres organes. Les branchies et le manteau en contiennent une quantité plus faible.

D'autres dosages ont été effectués sur la masse viscérale, les branchies et les muscles d'autres Lamellibranches : les résultats ayant été trouvés comparables à ceux déjà obtenus, nous ne donnerons pas le détail de ces recherches.

B. — Céphalopodes.

Sepia officinalis.

Nos recherches ont été faites sur des Seiches du bassin d'Arcachon et les prélèvements ont été effectués aussitôt après la capture. Pour cela, nous avons préparé à l'avance une série de tubes à essai, bouchés au liège paraffiné, contenant 10 cm³ d'acide trichloracétique à 10 p. 100 et pesés exactement. Les fragments des organes découpés au ciseau ont été introduits aussitôt dans les tubes à essai qui ont été ensuite conservés dans un seau rempli de glace jusqu'au retour de la pêche. Les organes ont été prélevés après saignée par incision des cœurs branchiaux. Les organes prélevés ont été le foie, le pancréas, les glandes nidamentaires blanches et rouges chez la femelle et les testicules chez le mâle, les branchies, les corps fugiformes et les cœurs branchiaux.

	Seiche ♂. (Mai)		Seiche ♀. (Mai)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Foie	373	16	326	13
Branchies	90	60	44	12
Pancréas	126	63	119	12
Corps fungiformes	42	35	41	37
Organes génitaux en entier	164	55	—	—
Muscles	16	47	29	44
Cœurs branchiaux	—	—	131	37
Organes nidamentaires :				
rouge	—	—	162	35
blanc	—	—	76	36
Sang	12	30	—	—
Peau	9	10	9	21
Cordons génitaux mâles	32	2	—	—
Masse génitale blanche	128	22	—	—
Œufs en formation	—	—	96	9
Œufs non mûrs	—	—	77	23
Œufs mûrs	—	—	44	65
Embryon	—	—	92	92
Coques noires de l'œuf	—	—	18	57

Le foie est toujours l'organe très riche en glutathion réduit, mais il ne renferme que peu de glutathion oxydé. Au contraire, dans les autres organes, le glutathion oxydé semble

être réparti d'une manière assez uniforme, aussi bien chez le mâle que chez la femelle. Les organes génitaux sont aussi très riches en glutathion réduit; il faut noter chez la femelle une quantité plus élevée de glutathion réduit dans la glande nidamentaire rouge que dans l'organe nidamentaire blanc. Le muscle ne contient que peu de glutathion réduit et beaucoup d'oxydé.

Il semble qu'au cours du développement embryonnaire, le glutathion réduit diminue alors que l'oxydé augmente. Nous avons, en effet, étudié les variations du glutathion au cours du développement de l'œuf : 96 mg. de glutathion réduit et 9 mg. de glutathion oxydé pour l'œuf en formation présent dans le corps de la femelle; pour l'œuf plus développé, nous avons trouvé 77 mg. de GR et 23 mg. de GO : le glutathion réduit baisse, alors que le glutathion oxydé augmente; enfin, pour l'œuf mûr récolté sur les fonds de sable, nous avons trouvé 44 mg. de GR et 65 mg. de GO : nouvelle baisse de GR et augmentation très nette du taux de GO.

C. — *Gastéropodes.*

Blanchetière et Melon [18] ont donné pour les Gastéropodes (animal en entier) les chiffres suivants : *Patella cœrulea*, 60 mg.; *Murex trunculus*, 72 mg. pour 100 g. d'animal.

Helix aspersa.

Avec de forts ciseaux, on a découpé la coquille le long de la spire, de manière à la détacher par morceaux. A l'aide d'un scalpel, le muscle columellaire a été tranché, et par quelques petites secousses l'animal a été peu à peu dégagé de sa coquille. Les spires de l'animal ont été déroulées avec beaucoup de soin, la glande de l'albumen a été prélevée ainsi que l'hépato-pancréas et le muscle du pied. Le sang a été prélevé par incision du cœur et recueilli dans une éprouvette graduée. Le lot d'animaux que nous avons étudié avait été acheté au marché et conservé pendant plusieurs mois

au laboratoire. Les animaux ont été nourris avec des carottes et de la salade jusqu'au jour où ils ont été sacrifiés.

	Escargot de vigne (Janvier)		Escargot de Bourgogne (Mai)	
	GR	GO	GR	GO
Sang	5	15	4	11
Glande de l'albumen	85	17	44	7
Hépato-pancréas	212	22	153	15
Muscle du pied	88	10	52	19

L'escargot contient peu de glutathion oxydé par rapport à la quantité de glutathion réduit, surtout dans l'hépato-pancréas, qui est de beaucoup l'organe le plus riche; le sang ne contient que peu de glutathion réduit, mais une assez forte quantité de glutathion oxydé.

Buccinum undatum.

Pour prélever les organes, nous avons scié la coquille en suivant les spires, et peu à peu nous avons retiré l'animal. La masse viscérale, spiralée, a été disséquée avec le plus grand soin. Dans la cavité palléale, située à la partie antérieure de la masse viscérale, se trouvent les branchies, formées de minces lamelles juxtaposées parallèlement. A côté des branchies se trouve une région glandulaire constituant la glande qui sécrète un mucus épais et abondant. Le foie remplit la majeure partie du tortillon et de la masse viscérale; la glande génitale, unique, de couleur jaune vif, est placée dans le tortillon, au milieu des lobes du foie.

	Buccin (poids = 210 g.) (Avril)	
	GR	GO
Sang	2	18
Branchies	80	27
Foie	162	10
Glande génitale	111	28
Muscle du pied	48	30
Glande à mucus	41	30

Chez le Buccin, le foie et la glande génitale sont riches en glutathion réduit, le muscle du pied ne contient que 48 mg.

de GR et beaucoup de GO par rapport aux quantités des autres organes de ce Gastéropode. Le sang ne contient presque pas de GR, mais renferme une quantité notable de GO.

Littorina littorea — Patella vulgata.

Pour la Patelle commune, nous avons fait des dosages sur l'animal entier.

Les Littorines ont été achetées au marché et laissées pendant vingt-quatre heures dans de l'eau de mer. Leur coquille, très résistante, a été écrasée et l'animal divisé en deux parties : masse génitale et pied.

	Patelle (Janvier)		Littorine (Février)		Littorine (Mars)	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—	—	—
In toto.....	66	13	90	26	—	—
Masse viscérale.	—	—	121	40	148	15
Muscle du pied.	—	—	63	10	67	11

La masse viscérale, composée de l'hépato-pancréas, du tube digestif et des glandes génitales, contient beaucoup de glutathion réduit et oxydé. Le muscle est aussi riche en glutathion réduit.

V. — POISSONS

Blanchetière et Melon [18] ont donné quelques chiffres pour l'animal entier, pour le foie et pour le muscle : *Gobius flavescens*, 8 mg. (*in toto*); *Gobius paganellus*, 7,5 mg. (*in toto*); enfin, pour le muscle de l'Anguille, 5,7 mg., et 78 mg. pour le foie chez ce même animal. D'après ces chiffres, les Poissons ont une teneur extrêmement faible en glutathion réduit pour l'animal entier, la plus grande partie du glutathion réduit se trouve cependant dans le foie; on en trouve peu dans les muscles.

Boucher-Firly [22] a fait des travaux sur le glutathion chez l'Anguille et le Congre, dont voici les conclusions : 1° Chez les jeunes Anguilles, la teneur en glutathion réduit

in toto diminue à mesure que l'Anguille est plus avancée dans son développement, et il existe un parallélisme entre cette teneur et la consommation d'oxygène; 2° La teneur en glutathion réduit du sang, du foie et des organes génitaux des grosses Anguilles semble indépendante du milieu extérieur; 3° Il existe une différence frappante entre les teneurs en glutathion des deux Téléostéens apodes très voisins : l'Anguille et le Congre, ces teneurs étant beaucoup plus faibles chez le Congre, surtout dans les organes génitaux.

Anguilla vulgaris.

Les animaux étudiés ont été conservés pendant quarante-huit heures dans de l'eau distillée. Les dosages ont porté sur le foie, les muscles et le sang.

	Anguille (Janvier)	
	GR	GO
	—	—
Sang	16	37
Foie	77	13
Muscle	5	1

Nous avons retrouvé les mêmes chiffres que Blanchetière et Melon pour le foie et le muscle. Mais un fait important est à noter : la grande quantité de glutathion réduit et oxydé dans le sang par rapport au sang des Invertébrés.

Barbus fluviatilis et *Cyprinus carpio.*

Le Barbeau sur lequel nous avons fait nos prélèvements a été conservé au laboratoire vingt-quatre heures dans de l'eau distillée avant de le sacrifier. Le sang a été prélevé par section de la queue et introduction d'une fine canule en verre dans l'aorte dorsale. Les autres prélèvements ont été effectués comme précédemment. La Carpe que nous avons sacrifiée était en bon état et pesait 800 g. Comme pour le

Barbeau, nous avons tout d'abord prélevé le sang par section de la queue et avec l'aide d'une canule; puis nous avons prélevé des branchies, du foie, du rein, de la rate et des œufs en formation.

	Barbeau (Février)		Carpe (Février)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	12	6	9	15
Foie	56	2	43	2
Rein	51	25	47	2
Rate	68	51	20	21
Pancréas	53	80	—	—
Testicules	33	3	—	—
Branchies	39	15	41	3
Muscle et peau	5	15	6	18
Œufs en formation	—	—	79	2

Chez le Barbeau, le pancréas, la rate, le foie et le rein sont les organes les plus riches en glutathion réduit; le sang en contient davantage que celui des Crustacés et le muscle relativement peu. Notons enfin la quantité considérable de glutathion oxydé que l'on trouve dans le pancréas.

Pour la Carpe, les œufs, le foie, le rein, sont les organes riches en glutathion réduit; le muscle n'en contient que très peu. Dans l'ensemble, on trouve peu de glutathion oxydé par rapport au Barbeau.

Petromyzon marinus et *Petromyzon Planeri.*

Nous avons étudié comparativement la Lamproie marine et la Lamproie d'eau douce (de Planer). Après avoir pratiqué une incision longitudinale allant du niveau des orifices branchiaux au cloaque, on trouve le foie, glande volumineuse qui remplit la cavité abdominale. Il n'existe pas de pancréas. Le tube digestif est flottant. Sur la ligne dorsale, on trouve deux reins en forme de rubans longitudinaux. Les glandes génitales se présentent sous la forme d'une masse volumineuse, allongée. Le sang est recueilli par section de la queue et avec une canule en verre. La Lamproie de Planer est plus petite que la Lamproie marine. Nos prélèvements et nos

dosages ont porté sur 3 animaux. Les résultats ont été mentionnés dans le tableau suivant :

	Lamproie marine (Mars)		Lamproie d'eau douce (Avril)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	6	40	3	15
Foie	113	16	58	6
Rein	60	28	54	22
Œufs	57	4	58	3
Branchies	64	23	26	36
Muscle et peau	26	23	11	27
Moyenne	54	22	35	18

De l'examen de ce tableau, il ressort que la Lamproie marine a une teneur plus élevée en glutathion que la Lamproie de Planer. Ces résultats concordent avec ceux de Boucher-Firly [22] sur l'Anguille et le Congre. Cet auteur a, en effet, dosé le glutathion réduit chez ces deux animaux et a cherché aussi l'influence des variations de salinité sur la teneur en glutathion. Il a conclu que le transfert dans l'eau de mer augmente la teneur en glutathion et que, bien qu'on ne puisse s'expliquer ce phénomène, cette augmentation doit être attribuée en partie à la perte d'eau occasionnée par le brusque changement de salinité.

Protopterus aethiopicus.

Le *Protopterus aethiopicus* fait partie de l'ordre des Dipneustes, qui possèdent en effet simultanément des branchies et des poumons. Les Dipneustes font le passage des Poissons aux Batraciens. Depuis de nombreuses années, l'estivation et la respiration aérienne de ce *Protopterus* étaient connues par les biologistes, mais c'est en 1930 que Smith [53] fit des recherches sur le métabolisme de ce Poisson et donna de nombreuses observations physiologiques et biochimiques. A notre connaissance, aucune communication n'a été faite sur la teneur en glutathion de ce Dipneuste.

Les animaux que nous avons étudiés provenaient de l'Afrique, exactement de Yanfolila, et ont été pêchés dans les rizières desséchées du « Ouassoulou ». Son nom indigène, le « Ou'ontos », semble indiquer la faculté qu'il a de s'en-

foncer dans la terre et d'y séjourner pendant la saison sèche. Peu avant le retrait complet des eaux, le *Protopterus* s'enfonce dans la vase, environ à 20 ou 30 centimètres de profondeur, puis, se repliant sur lui-même comme un serpent, il place sa queue sur sa tête et, grâce à un mucus qu'il sécrète, il forme un véritable cocon où il demeure pendant toute la saison sèche. Il peut alors être transporté facilement pour être étudié au laboratoire. Quand les eaux reviennent, il se libère de son cocon et reprend peu à peu sa vie aquatique. Le cocon est souple, insoluble dans l'eau et protège contre la perte d'eau. Durant l'estivation, le cocon se colle contre le cloaque et le ferme entièrement. Cette partie du cocon est habituellement tachée : cette tache est produite par la dernière urine qui est excrétée pendant les premiers jours d'estivation. Jamais on ne trouve d'accumulation d'urine dans le cocon.

Nos dosages ont porté sur plusieurs animaux : tout d'abord nous avons réveillé les animaux en les plaçant dans l'eau distillée; ainsi, ils ont peu à peu repris leur vie aquatique, puis, dans une dernière expérience, nous avons fait nos prélèvements, l'animal étant enfermé dans son cocon.

	Protopterus (poids = 20 à 60 g.)					
Dans l'eau pendant :	30 heures		48 heures		Encore dans le cocon	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—	—	—
Foie	70	12	82	14	127	10
Organes génitaux...	85	4	62	11	51	3
Muscle et peau.....	9	4	7	10	6	4

De l'examen de ce tableau, il ressort que le foie est l'organe le plus riche en glutathion. Il faut aussi remarquer que pendant la période d'estivation, le foie du *Protopterus* paraît plus riche en glutathion réduit.

VI. — BATRACIENS

Blanchetière et Melon [18] ont dosé le glutathion réduit chez le Crapaud et trouvé que le foie est beaucoup plus riche (140 mg.) que le muscle (11 mg.).

Rana Temporaria.

Nous avons fait deux séries de dosages sur un lot de Grenouilles conservées pendant un an au laboratoire. L'animal, placé dans un flacon à large ouverture, bouchant à l'émeri, est insensibilisé par un tampon de chloroforme. Aussitôt après la mort de l'animal, on sectionne une patte et on recueille le sang qui s'écoule lentement. On fait une large incision sur la ligne médiane; immédiatement au-dessous du sternum, on aperçoit le cœur avec son péricarde en partie recouvert par le foie, le pancréas logé dans l'anse duodénale. En écartant l'intestin et en déplaçant le foie, on a les poumons flottant librement dans la cavité. Plus bas, les reins avec les surrénales et les organes génitaux.

Voici les résultats obtenus :

	Grenouille 1 (Janvier)		Grenouille 2 (Janvier)	
	GR	GO	GR	GO
	—	—	—	—
Sang	12	18	15	20
Foie	121	32	100	30
Ovaire	137	13	140	14
Reins et surrénales	70	166	76	138
Muscle	16	20	16	20

D'après ces chiffres, il apparaît que le foie et les ovaires sont les organes les plus riches en glutathion. Le muscle en contient très peu. Un fait est à remarquer : la quantité considérable de glutathion oxydé contenu dans les reins et les surrénales. On sait, en effet, que les glandes endocrines sont plus riches en glutathion que les autres organes. La richesse en glutathion de la glande surrénale attira l'attention d'un grand nombre d'auteurs, et Léon Binet [8-9] put, à la suite de nombreuses expériences, établir le rôle des capsules surrénales dans le métabolisme du soufre (401-585 mg. pour 100 g. de tissu dans la surrénale du chien). La surrénale fixerait un tiers du soufre contenu dans le sang qui la traverse. Après avoir mis en évidence la richesse de la glande surrénale en glutathion, Binet et ses collaborateurs recherchèrent la localisation de ce composé. Binet et

Giroud [10] constatèrent que la réaction au nitroprussiate était plus intense au niveau de la cortico-surrénale qu'au niveau de la médullaire. La zone corticale est donc beaucoup plus riche en glutathion. De plus, chez le Cobaye jeune, c'est la partie la plus interne de la substance corticale, la zone réticulée, qui donne la réaction du glutathion la plus intense. Binet, Blanchetière et Arnaudet [9] montrèrent que la surrénale était capable d'assurer la synthèse du glutathion. Enfin, ils constatèrent aussi que divers facteurs biologiques retentissaient sur le taux du glutathion dans la capsule surrénale.

CHAPITRE V

REPARTITION DU GLUTATHION DANS LES ORGANES DES ANIMAUX INFERIEURS

D'après l'ordre zoologique, nous avons groupé, par organe et par mois, les différents résultats :

	Janvier		Février		Mars		Avril-Mai	
Hépato-pancréas.	GR	GO	GR	GO	GR	GO	GR	GO
Asterias rubens	88	14	—	—	73	13	—	—
	90	22	—	—	—	—	—	—
Carcinus moenas	110	14	—	—	153	13	—	—
	113	19	—	—	—	—	—	—
	110	14	—	—	—	—	—	—
Cancer pagurus	133	10	—	—	122	21	—	—
Homarus vulgaris	—	—	178	32	115	19	—	—
Nevrops norvegicus	101	25	—	—	—	—	110	15
	109	12	—	—	—	—	—	—
Gryphea angulata	70	6	74	6	72	3	—	—
	78	12	72	6	—	—	—	—
Mytilus edulis	139	17	—	—	—	—	145	8
Pecten jacobaeus	181	10	—	—	—	—	—	—
Sepia officinalis :								
Foie	—	—	—	—	—	—	373	16 ♂
	—	—	—	—	—	—	326	13 ♀
Pancréas	—	—	—	—	—	—	126	63 ♂
	—	—	—	—	—	—	119	12 ♀
Helix aspersa	212	22	—	—	—	—	—	—
Anguilla vulgaris	77	13	—	—	—	—	—	—
Petromyzon marinus	—	—	—	—	113	16	—	—
Petromyzon Planeri	—	—	—	—	—	—	58	6

	Janvier		Février		Mars		Avril-Mai	
Branchies	GR	GO	GR	GO	GR	GO	GR	GO
Carcinus moenas	18	12	—	—	49	13	—	—
	47	16	—	—	—	—	—	—
Cancer pagurus	20	10	—	—	31	13	—	—
Homarus vulgaris	—	—	34	40	39	16	—	—
Nevrops norvegicus	61	26	—	—	—	—	51	17
	46	17	—	—	—	—	—	—
Astacus fluviatilis	—	—	—	—	17	52	—	—
	—	—	—	—	22	58	—	—
Gryphea angulata	40	6	62	12	60	10	—	—
	40	20	59	20	—	—	—	—
Mytilus edulis	66	12	—	—	—	—	62	15
Sepia officinalis ♂	—	—	—	—	—	—	90	60
♀	—	—	—	—	—	—	44	12
Cyprinus carpio	—	—	41	3	—	—	—	—
Petromyzon marinus	—	—	—	—	64	23	—	—
Petromyzon Planeri	—	—	—	—	—	—	26	36
Muscles								
Sipunculus nudus	34	18	—	—	—	—	—	—
Carcinus moenas	33	8	—	—	46	20	—	—
	36	18	—	—	—	—	—	—
	36	16	—	—	—	—	—	—
Cancer pagurus	55	2	—	—	50	5	—	—
Homarus vulgaris	—	—	19	8	22	18	—	—
Nevrops norvegicus	22	7	—	—	—	—	21	6
	20	7	—	—	—	—		
Gryphea angulata	14	20	43	40	27	40	—	—
Mytilus edulis	65	28	—	—	—	—	—	—
Sepia officinalis ♂	—	—	—	—	—	—	16	47
♀	—	—	—	—	—	—	29	44
Anguilla vulgaris	5	1	—	—	—	—	—	—
Petromyzon marinus	—	—	—	—	25	23	—	—
Petromyzon Planeri	—	—	—	—	—	—	11	27

Organes Génitaux.	Janvier		Février		Mars		Avril-Mai	
	GR	GO	GR	GO	GR	GO	GR	GO
Asterias rubens	61	2	—	—	64	1	—	—
	72	2	—	—	—	—	—	—
Paracentrotus lividus ♂	160	5	—	—	104	28	—	—
♀	266	6	—	—	214	31	—	—
Cancer pagurus	126	4	—	—	92	2	—	—
Mytilus edulis	90	12	—	—	—	—	148	10
Pecten jacobaeus ♀	107	5	—	—	—	—	—	—
♂	100	100	—	—	—	—	—	—
Sepia officinalis	—	—	—	—	—	—	164	55 ♂
Barbus fluviatilis	—	—	33	3	—	—	—	—
Rana temporaria	137	13	—	—	—	—	—	—
	140	14	—	—	—	—	—	—
Sang ou liquide cavitaire.								
Asterias rubens	3	27	—	—	4	30	—	—
	3	21	—	—	—	—	—	—
Paracentrotus lividus	4,2	1,3	—	—	4,9	1,9	—	—
Arenicola piscatorum	15	31	—	—	—	—	—	—
Sipunculus nudus	4,9	2,4	—	—	—	—	—	—
Carcinus moenas	3	6	—	—	2	22	—	—
Cancer pagurus	3	21	—	—	3	24	—	—
Homarus vulgaris	—	—	3	12	3	12	—	—
Nevrops norvegicus	4,6	22	—	—	3,4	20	—	—
Astacus fluviatilis	—	—	—	—	2,4	27	—	—
Sepia officinalis	—	—	—	—	—	—	12	30
Helix aspersa	5	15	—	—	—	—	—	—
Anguilla vulgaris	16	37	—	—	—	—	—	—
Petromyzon marinus	—	—	—	—	6	40	—	—
Petromyzon Planeri	—	—	—	—	—	—	3	15

De l'examen des tableaux donnant les résultats des dosages du glutathion réduit pour les différents organes, il se dégage que le foie ou hépato-pancréas est de beaucoup l'organe le plus riche. Puis viennent, par ordre décroissant, les organes génitaux, mâles ou femelles, dont la richesse en glutathion s'observe surtout au moment de la reproduction, les branchies, et le sang qui n'en contient que peu. Il faut faire cependant une exception pour les Poissons et les Batraciens.

Ces animaux, en effet, possèdent une teneur en glutathion réduit assez élevée dans le sang, puisqu'elle varie de 6 mg. chez la Lamproie marine à 15 mg. chez la Grenouille, 16 mg. pour l'Anguille, alors que chez les Echinodermes, les Vers (exception faite de l'Arénicole), les Crustacés, les Gastéropodes, la moyenne est faible : elle n'atteint que 3 à 4 mg. de glutathion réduit pour 100 cm^3 de sang ou de liquide cavitaire. Par contre, la teneur en glutathion réduit des organes des Poissons est en moyenne très faible : c'est ainsi que leur foie contient moins de glutathion réduit que l'hépato-pancréas des Crustacés, des Mollusques et des Batraciens. Mais ce qui frappe encore davantage, c'est le peu de glutathion réduit contenu dans les muscles de ces animaux : nous avons trouvé une moyenne de 5 à 6 mg. pour 100 gr. de muscle, tandis que chez les Crustacés et les Mollusques, par exemple, nous avons en moyenne de 30 à 40 mg. Ces faits ont d'ailleurs été signalés par Blanchetière et Melon [18] dans leurs travaux de Tamaris-sur-Mer.

L'hépato-pancréas a une teneur moyenne élevée (100 mg. pour 100 g., en glutathion réduit) pour les Echinodermes, les Crustacés et les Mollusques. Chez les Gastéropodes, nous avons trouvé des valeurs encore plus fortes : 212 mg. pour le foie de l'Escargot, 162 pour celui du Buccin et 148 mg. pour celui du Vignot ou Littorine. Le foie de la Seiche a la plus forte teneur en glutathion réduit : 326-373 mg., chiffres voisins de ceux que Blanchetière et Binet [15] ont obtenus dans le foie du Chien. Chez les Poissons, nous avons trouvé des chiffres beaucoup plus faibles : 77 mg. pour le foie de l'Anguille, 56 pour celui du Barbeau, et 43 mg. pour la Carpe. Nous avons noté qu'il semblait exister une différence assez marquée entre les Poissons marins et les Poissons d'eau douce : les premiers étaient plus riches en glutathion que les seconds. Ainsi, dans la Lamproie marine nous avons trouvé pour le foie 113 mg., alors que pour la Lamproie de Planer, qui vit en eau douce, 58 mg. seulement. Le même fait a été signalé par Boucher-Firly [22], dans ses travaux sur le glutathion chez l'Anguille et le Congre et ses rapports avec les phénomènes respiratoires. Cet auteur a, en

effet, observé que le transfert dans l'eau de mer augmentait nettement la teneur en glutathion.

Les branchies contiennent une quantité de glutathion variable suivant l'espèce et surtout suivant l'état physiologique de l'animal au moment même où on le sacrifie. Chez le Carcin, par exemple, en faisant des dosages sur un même lot de Crabes provenant du bassin d'Arcachon, nous avons trouvé des différences notables.

Le muscle est l'organe qui contient le moins de glutathion réduit. Chez les Crustacés, la moyenne pour le muscle est de 40 mg. : 36 mg. chez le Carcin, 20 mg. pour la Langoustine, 28 chez l'Ecrevisse et 50 mg. pour le Crabe tourteau. Chez les Mollusques, elle est sensiblement la même, puisque nous avons retrouvé les chiffres de 34 mg. pour *Gryphoea angulata*, 26 pour *Cardium edule*, 34 pour le Petoncle et 65 mg. pour *Mytilus edulis*. Chez les Gastéropodes, la moyenne est plus élevée; elle oscille entre 60 et 70 mg. pour 100 g. de tissu. Enfin, chez les Poissons et même chez les Batraciens, nous avons trouvé des chiffres faibles : 6 mg. chez l'Anguille, 5 mg. pour le Barbeau, 6 mg. pour la Carpe et 16 mg. pour la Grenouille.

Les organes génitaux des Oursins sont riches en glutathion réduit : 160 mg. dans les organes mâles et 266 dans les glandes génitales femelles. Le chiffre le plus faible a été observé chez le Barbeau (33 mg.). Nous avons remarqué les chiffres moyens de 100 mg. chez le *Pecten*, 90 mg. chez *Mytilus edulis;* de 107 mg. dans les glandes femelles et de 100 mg. dans les organes génitaux mâles du *Pecten jacobaeus*.

En résumé, le taux du glutathion réduit dans les organes chez les animaux inférieurs s'établit ainsi par ordre décroissant : hépato-pancréas ou foie, glandes génitales, branchies, muscles et sang. Ces résultats ont été aussi confirmés chez les Mammifères par divers auteurs. Chez le Rat, Thompson et Voegtlin [52] trouvèrent des teneurs en glutathion réduit oscillant autour de 25 mg. dans les muscles, de 100 mg. dans le cerveau et le rein, et atteignant 200 mg. dans le foie. Ces auteurs constatèrent le fait, retrouvé constamment depuis, que les variations individuelles étaient notables.

Ils recherchèrent le glutathion sanguin et constatèrent que le sérum n'en contenait pas et que les hématies en renfermaient des taux variables suivant les animaux : 55 mg. chez le Chien, 46 mg. chez le Rat, 104 mg. chez le Lapin et 153 mg. chez le Cobaye. Le sang veineux paraissait plus riche que le sang artériel. Buffa nota que la peau donnait une réaction positive au nitroprussiate. Blanchetière et Binet [13-14-15] trouvèrent que, chez le Chien, le foie était le tissu le plus riche et que, si on classait par ordre de teneur décroissante les divers organes, on aurait : foie, rein, rate, muscle et poumon. Mme Randoin et Fabre [48] trouvèrent chez le Pigeon une teneur plus forte dans le foie que dans les divers muscles et que dans le sang. Delore [28-29] trouva que, chez le Cobaye et le Bœuf, le foie était plus riche en glutathion réduit que divers autres organes. En résumé, quels que soient les animaux considérés, on retrouve toujours les mêmes faits suivants :

1° dans le sang, le glutathion réduit est localisé dans les hématies, à l'exclusion du sérum, qui ne contient pas de dérivés sulfhydrylés;
2° les variations individuelles sont importantes;
3° le foie semble être l'organe le plus riche en glutathion réduit.

Cependant, il paraît y avoir une plus grande richesse en glutathion réduit dans certaines glandes; en effet, Houssay et Mazzoco [35] trouvèrent que, chez le Rat blanc, la surrénale était l'organe le plus riche en glutathion réduit. Hirsch devait trouver un résultat analogue chez le Lapin.

Glutathion oxydé.

Le glutathion oxydé est toujours en quantité plus faible que le glutathion réduit. Cependant, sa répartition dans les différents organes des animaux est sensiblement uniforme. Dans l'hépato-pancréas, nous en avons trouvé peu par rapport à la quantité élevée de glutathion réduit. Les branchies en contiennent davantage, bien que le taux soit assez varia-

ble : le facteur individuel semble donc jouer ici. Le muscle contient, en général, peu de glutathion oxydé; il faut cependant noter la quantité constante et élevée du glutathion oxydé trouvée dans tous les muscles adducteurs des Mollusques lamellibranches.

La forte teneur en glutathion réduit du foie et de l'hépato-pancréas des Invertébrés est un fait qui s'explique peut-être de la façon suivante : comme on sait, le glutathion est un tripeptide constitué par de la cystéine, du glycocolle et de l'acide glutamique. Or, il a été démontré par notre maître, M. le Professeur H. Delaunay, que le foie des Invertébrés est l'organe de mise en réserve des matériaux azotés de la digestion et qu'il contient d'autre part, à l'état libre, une quantité d'azote aminé beaucoup plus forte que celle du foie des Vertébrés. Le tripeptide glutathion peut vraisemblablement se former aisément à partir des acides aminés d'origine exogène chez les Invertébrés carnivores, dont le foie est particulièrement riche en acides aminés (Astérie, Crustacés, Céphalopodes) ou encore être libéré par protéolyse endogène, les protéiques du foie des mêmes Invertébrés soumis à l'autolyse se transformant rapidement en acides aminés. Quoi qu'il en soit, il est curieux de remarquer que plusieurs auteurs travaillant sur les Vertébrés supérieurs sont arrivés à admettre de leur côté que le foie est vraisemblablement l'organe de formation et de mise en réserve du glutathion. Transformateur ou néoformateur d'acides aminés suivant l'état de la nutrition, le foie paraît bien jouer, en définitive, vis-à-vis des protéiques, un rôle analogue à celui qu'il exerce dans le métabolisme des hydrates de carbone. Ainsi que Gersholowitz et Campbell [32] l'ont déjà admis pour les Vertébrés, il est possible que chez les Invertébrés le glutathion soit élaboré et mis en réserve dans le foie ou l'hépato-pancréas et distribué ensuite aux autres organes.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Nos recherches ont eu pour but de préciser nos connaissances sur la présence et l'importance du glutathion dans les différents organes des animaux inférieurs (Invertébrés, Poissons, Batraciens).

Après avoir donné un aperçu historique des nombreux travaux relatifs au glutathion chez les animaux ou végétaux (chapitre I), nous avons exposé la technique que nous avons utilisée pour la récolte des matériaux d'étude et pour le dosage du glutathion réduit et oxydé.

Les animaux étudiés au cours de nos travaux ont été, pour la plupart, des animaux marins que nous avons pu obtenir dans d'excellentes conditions, grâce à la proximité de la Station biologique d'Arcachon. Nous avons aussi fait quelques recherches sur des animaux d'eau douce (Ecrevisse, Anguille, Carpe, Lamproie de Planer et Barbeau), et terrestres (Escargot). Dans l'embranchement des Echinodermes, nous avons étudié l'Astérie et l'Oursin; dans celui des Vers, l'Arénicole et le Siponcle; chez les Crustacés, le Crabe tourteau, le Carcin, la Langoustine, le Homard et l'Ecrevisse; chez les Mollusques lamellibranches, l'Huître, le Clovisse, la Coque, la Moule, la Coquille Saint-Jacques, la Mye et le Petoncle; chez les Céphalopodes, la Seiche; chez les Gastéropodes, l'Escargot, la Patelle, le Vignot et le Buccin; chez les Poissons, l'Anguille, le Barbeau, la Carpe, les Lamproies marine et de Planer; enfin, chez les Batraciens, la Grenouille.

A différentes époques de l'année, nous avons analysé avec le plus grand soin les principaux organes de ces animaux : foie ou hépato-pancréas, muscles, branchies, organes fungiformes ou reins, organes reproducteurs, sang et liquides cavitaires.

Pour le dosage du glutathion, nous avons utilisé la méthode classique de Tunnicliffe : méthode directe à l'iode avec l'empois d'amidon comme indicateur. Dans le chapitre III, on trouvera l'exposé analytique de nos recherches ainsi que les résultats déjà obtenus par Blanchetière et Melon. Ayant tiré au fur et à mesure les conclusions qui découlent de nos dosages, il ne nous restera maintenant qu'à dégager rapidement les faits les plus importants que nous avons eu personnellement l'occasion de constater. Nous avons trouvé d'une manière constante du glutathion réduit et oxydé dans les tissus des animaux étudiés. Ce fait fut déjà noté par Blanchetière et Melon dans leurs travaux sur le glutathion. Nos recherches, étendues aux divers organes, ont mieux mis en évidence la diffusion du glutathion. C'est ainsi qu'en dehors du foie et de hépato-pancréas, on en trouve en quantité notable dans les branchies des Mollusques lamellibranches, des Crustacés et des Céphalopodes; dans les organes reproducteurs chez l'Astérie, l'Oursin, le Crabe tourteau, la Moule, la Coquille Saint-Jacques, le Buccin, le Barbeau et la Grenouille; dans les œufs (Homard, Langoustine, Ecrevisse, Seiche); dans les téguments destinés à former la nouvelle carapace des Crustacés au moment de la mue (Carcin, Crabe tourteau et Homard).

Le taux du glutathion réduit varie beaucoup pour un même animal suivant les divers organes. Dans l'hépato-pancréas et les organes génitaux (lorsqu'ils sont en pleine activité), on trouve un chiffre beaucoup plus élevé que dans les muscles, les branchies ou le sang.

Le glutathion oxydé est en quantité bien moindre que le glutathion réduit. On ne peut pas tirer de conclusion générale, car il est diffusé dans tout l'organisme et présente des variations individuelles notables.

L'ensemble des faits que nous avons observés nous amène à conclure que :

1° dans le sang du Siponcle, le glutathion est localisé dans les hématies et les éléments figurés, le plasma n'en contient pas;

2° la teneur en glutathion du liquide cavilaire des Echi-

nodermes, du sang des Crustacés et des Mollusques (Seiche, Escargot) est faible;

3° la richesse en glutathion des organes est par ordre décroissant : foie ou hépato-pancréas, glandes génitales, branchies et muscle. Le foie, en effet, semble être l'organe le plus riche, bien que les organes génitaux en soient amplement pourvus, surtout au moment de la reproduction.

Enfin nous avons étudié les effets de l'asphyxie chez le Siponcle et le Crabe; nous avons toujours noté une hausse très nette du glutathion réduit dans les organes et surtout dans le foie ou hépato-pancréas.

Il nous semble donc possible de conclure, comme l'ont fait Gersholowitz et Campbell, que le foie est le lieu de mise en réserve et probablement aussi d'élaboration du glutathion, qui est ensuite distribué dans les autres organes.

Signalons enfin que nos recherches étaient terminées lorsqu'a paru à la Société de biologie (29 juin 1935) une note de L. Binet et Weller, qui ont observé que le taux du glutathion dans les organes du Cobaye soumis à l'inanition reste normal juqu'au huitième jour, à l'exception du glutathion du foie, qui baisse notablement dès le quatrième jour. Les auteurs ont émis deux hypothèses : l'une suivant laquelle le glutathion disparu serait utilisé par le foie pendant le jeûne, l'autre suivant laquelle le glutathion hépatique serait mis à la disposition des autres organes. Quoi qu'il en soit, la richesse et la mobilité du glutathion hépatique paraissent bien démontrées.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
H. DELAUNAY.

Vu : *Le Doyen,*
Pierre MAURIAC.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 30 décembre 1935.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

1. Achard, Mlle Lévy et Guthmann. — Contributions à l'étude de la glutathionémie à l'état normal et dans divers états pathologiques. *Bull. Acad. méd.*, 26 avril 1932.
2. Arnovljevitch. — Rapport entre le taux du glutathion dans le sang et la glycémie chez le Lapin. *C. R. Soc. biol.*, *107*, 1931.
3. — Augmentation du glutathion dans le foie et dans le sang après administration d'hyposulfite de soude par voie entérale. *C. R. Soc. biol.*, *106*, 1931.
4. — Le rapport entre le taux du glutathion sanguin et la glycémie chez l'Homme normal et chez les diabétiques. *C. R. Soc. biol.*, *107*, 1931.
5. Benedict and Gottschall. — The determination of glutathione. *Journ. of Biol. Chem.*, *99*, 1933.
6. Binet. — Le glutathion. *Presse médicale*, 1928.
7. Binet et Arnaudet. — Variations quantitatives du glutathion réduit dans le foie suivant diverses conditions expérimentales. *C. R. Soc. biol.*, *108*, 1931.
8. — Recherches sur le taux du glutathion du sang au cours des affections hépatiques. *C. R. Soc. biol.*, *110*, 1932.
9. Binet, Blanchetière et Arnaudet. — Synthèse du glutathion dans la glande surrénale. *C. R. Soc. biol.*, *104*, 1930.
10. Binet et Giroud. — Glandes surrénales et glutathion. *C. R. Soc. biol.*, *98*, 1928.
11. Binet et Gley. — Teneur en glutathion des tissus du Pigeon, action des glandes génitales, *C. R. Soc. biol.*, *112*, 1933.
12. Binet et Weller. — Une nouvelle méthode de dosage du glutathion. *C. R. Acad. sc.*, *193*, 1934.
13. Blanchetière et Binet. — Sur la teneur en glutathion des divers organes du Chien. *C. R. Soc. biol.*, *94*, 1926.
14. — Influence du régime sur la teneur en glutathion réduit des tissus du Chien. *C. R. Soc. biol.*, *95*, 1926.

15. — Teneur en glutation réduit de quelques glandes du Chien. *C. R. Soc. biol.*, *95*, 1926.

16. — Sur les variations de la teneur en glutathion réduit des tissus du Chien dans l'asphyxie et certaines intoxications. *C. R. Soc. biol.*, *94*, 1926.

17. Blanchetière, Binet et Melon. — Caractérisation et dosage des dérivés sulfhydrylés. *Journal de physiologie et pathologie générale*, 1929.

18. Blanchetière et Melon. — Sur la diffusion du glutathion dans le règne animal. *C. R. Soc. biol.*, *97*, 1927.

19. — Sur le dosage du glutathion. *C. R. Soc. biol.*, *97*, 1927.

20. Braier (B.) et Marenzi (A.). — Dosage colorimétrique du sang et des tissus. *C. R. Soc. biol.*, *109*, 1932.

21. Brel. — Contribution expérimentale à l'étude de l'action de l'adrénaline sur les échanges azotés. Thèse de médecine, Bordeaux, 1921.

22. Boucher-Firly. — Le glutathion chez l'Anguille et le Congre. Les rapports avec les phénomènes respiratoires. *C. R. Soc. biol.*, *112*, 1933.

23. Boutan (L.). — Dissections et manipulations de zoologie.

24. Brücker. — Initiation zoologique.

25. Chanton. — Teneur en glutathion réduit du sang du Coq et de la Poule domestiques adultes normaux. *C. R. Soc. biol.*, *110*, 1932.

26. Daniel and Doran. — Some chemical Constituents of the Mussel. *Biochem. Journ.*, *20*, 1926.

27. Delaville et Kowarski. — Remarques sur le dosage du glutathion. *C. R. Soc. biol.*, *106*, 1931.

28. Delore. — Recherches sur la teneur en glutathion réduit des tissus animaux au cours de la tuberculose et de diverses intoxications. *Bull. Soc. chim. biol.*, *9*, 1927.

29. — Sur la teneur en glutathion réduit des divers organes du Cobaye tuberculeux. *C. R. Soc. biol.*, *96*, 1927.

30. Dixon and Tunnicliffe. — The Oxidation of reduced Glutathione and other sulphydryl compounds. *Proc. of the Roy. Soc.*, *94*, 1923.

31. — On the reducing power of Glutathione and Cystein. *Biochem. Journ.*, *21*, 1927.

32. Gersholowitz et Campbell. — Teneur en glutathion des organes et effet du glucose dans l'intoxication chloroformique expérimentale. *Arch. int. pharm. et thér.*, *41*, 1931.

33. Giroud. — Protoplasma et glutathion. *C. R. Soc. biol.*, *98*, 1928.
34. Giroud et Bulliard. — Sur les substances à fonction sulfhydrile de l'épiderme. *Bull. Soc. chim. biol.*, *13*, 1931.
35. Houssay et Mazzoco. — Le glutathion et les propriétés réductrices des tissus des Rats décapsulés. *C. R. Soc. biol.*, *97*, 1927.
36. Hunter et Eagles. — Dosage colorimétrique de la cystine et du glutathion. *Journ. Biol. Chem.*, *72*, 1926.
37. Joyet-Lavergne. — La teneur en glutathion réduit est un caractère de sexualisation du cytoplasme. *C. R. Acad. sc.*, *184*, 1927.
38. — Sur les rapports entre le glutathion et le chondriome. *C. R. Acad. sc.*, *184*, 1927.
39. — Sur le rôle du chondriome dans le métabolisme cellulaire. *C. R. Soc. biol.*, *97*, 1927.
40. Kendall and Nord. — Reversible oxidation-reduction systems of cysteine-cystine and reduced oxidized glutathione. *Journ. of biol. Chem.*, *69*, 1926.
41. Lemelang et Deletang. — Teneur en glutathion réduit des principaux organes du fœtus humain. *C. R. Soc. biol.*, *115*, 1934.
42. Litarczek, Aubert, Comulesco et Nestoresco. — Sur un facteur tissulaire (glutathion) qui pourrait influencer la teneur en oxygène du sang veineux chez les Lapins normaux ou anémiés par saignée. *C. R. Soc. biol.*, *106*, 1931.
43. Litarczek, Tomesco et Nestoresco. — Méthode de dosage dans le sang du glutathion total sous forme réduite. *C. R. Soc. biol.*, *109*, 1932.
44. Melon. — Influence d'une alimentation riche en cystine sur le glutathion des tissus. *C. R. Soc. biol.*, *101*, 1929.
45. Michaux, Mollaret et Tounet. — Les albumines et le glutathion réduit du sang après injection d'huile soufrée. *C. R. Soc. biol.*, *114*, 1933.
46. Morel et Delore. — Autoxydation du glutathion réduit dans les organes cadavériques et son inhibition par frigorification. *C. R. Soc. biol.*, *96*, 1927.
47. Mme Randoin et Fabre. — Recherches comparatives sur la teneur en dérivés sulfhydrylés des muscles striés du foie et du sang chez le Rat normal, chez le Rat sous-alimenté et chez le Rat privé de vitamine B. *C. R. Acad. sc.*, *192*, 1931.
48. — Glutathion et avitaminose B chez le Pigeon. *Bull. Soc Chim. biol.*, *9*, 1927.

49. Mlle Régnier. — Préparation du glutathion. *Journ. pharm. et chim.*, *18*, 1933.

50. — Contribution à l'étude du glutathion. Thèse Dipl. Pharm. Sup., Paris, 1934.

51. Schearer. — On the oxidation processes of the Echinoderm egg during fertilisation. *Proc. of Roy. Soc.*, *93*, 1922.

52. Thompson and Voegtlin. — Glutathion content of normal animals. *Journ. of Chem.*, *70*, 1926.

53. Smith (W.). — Metabolism of the lung-fish, *Protopterus aethiopicus*. *Journ. of Biol. Chem.*, *88*, 1930.

54. Tunnicliffe (H. E.). — The occurence and quantitative estimation of glutathione in tissues. *Biochem. Journ.*, *19*, 1925.

55. Watrin. — La mélanogénèse du mamelon chez le Cobaye. *C. R. Soc. biol.*, *115*, 1934.

56. Wolf et Mlle Manjean. — Sur la teneur en glutathion réduit des tissus du Cobaye. *C. R. Soc. biol.*, *3*, 1932.

19.409. — Bordeaux, Imprim. Delmas, Chapon, Gounouilhou, 6, place St-Christoly. —1936.